Keimungshemmende Substanzen in der Frucht von Solanum Lycopersicum und in anderen Pflanzen

(Vorläufige Mitteilung)

Von

Heinz Oppenheimer

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität in Wien
Nr. 175 der zweiten Folge

(Vorgelegt in der Sitzung am 26. Jänner 1922)

Die Möglichkeit, keimungshemmende Substanzen zur Erklärung von Hemmungserscheinungen an Sporen und Samen heranzuziehen, ist in der Literatur der letzten Jahre mehrfach erörtert worden. So schreibt Neger (1) der Flüssigkeit, in der die Konidien einer *Pestalozzia*-Art von dem Mycel der Mutterpflanze abgeschieden werden, eine keimungshemmende Wirkung zu, Zlataroff (2) fand, daß Samen von *Cicer arietinum* in der Keimung durch die eigenen Stoffwechselendprodukte beeinträchtigt werden. Gassner (3) nimmt an, daß die Wirkung des Lichtes auf lichtgehemmte Samen in der Aktivierung eines äußeren Hemmungsprinzips zu erblicken sei, und Magnus (4) gelang es sogar, bei *Phacelia tenacetifolia* einen derartigen Hemmungsstoff aus den Samen zu isolieren.

Unter diesen Umständen muß man sich fast wundern, daß die normalen Keimungshemmungen, wie sie sich in fast allen fleischigen Früchten und vielen anderen Behältern von Fortpflanzungskörpern finden, noch fast gar nicht von diesem Standpunkt aus untersucht worden sind. Zwar nimmt Haack (5) an, daß der Terpentingehalt des Fruchtzapfens die Samen von *Pinus silvestris* daran hindere, in diesem zu keimen, und Wiesner (6) behauptete, daß der Schleim der Samen von *Viscum album* Hemmungsstoffe enthalten müsse, die die lange Samenruhe mitbedingen.

Erst Molisch wurde aber auf das allgemeine physiologische Problem aufmerksam, das hier vorliegt. Da Herr Hofrat Prof. Dr. Molisch selbst aus äußeren Gründen verhindert war, der Frage nachzugehen, stellte er mir die Aufgabe, die Ursachen dieser

Hemmungserscheinungen aufzuklären. Es ist mir ein dringendes Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. Molisch und ebenso Herrn Dr. G. Klein, Adjunkten am Pflanzenphysiologischen Institut der Universität in Wien, schon an dieser Stelle für ihre ständige Führung und Förderung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Es ist in der Tat sehr auffällig, daß z. B. die Samen von *Cucumis sativa* und anderen Cucurbitaceen nur in sehr seltenen Fällen in der Frucht auskeimen, daß die Brutkörper der *Marchantia polymorpha*, den Brutbechern entnommen, innerhalb von vier Tagen vollzählig keimen, während in den Bechern verbliebene erst nach vier bis fünf Wochen die ersten, sehr vereinzelten Keimlinge zeigen. Ausnahmen von der allgemeinen Regel, die sich hier zeigt, sind zwar nicht selten, treten aber meist nur vereinzelt auf, z. B. bei *Zea Mays, Citrus Limonum* und einigen Varietäten von *Nicotiana rustica* (vgl. die Arbeit von Savelli Roberto im N. giorn. bot. ital., XXVII, Nr. 2—4, 1920, wo sich auch die ältere Literatur zusammengestellt findet). Dagegen sprossen nach Schumann (7) die Ascussporen der *Taphrina*-Arten regelmäßig schon in den Schläuchen aus. Solche Erscheinungen sind von der Viviparie wohl zu unterscheiden, wie Savelli betont, denn diese ist durch den Fortbestand des lebendigen Zusammenhanges mit der Mutterpflanze gekennzeichnet.

Meine Versuche haben nun für eine Pflanze, nämlich *Solanum Lycopersicum*, bereits zu Ergebnissen geführt, die mir von allgemeinem Interesse zu sein scheinen. Diese Spezies erwies sich darum als ganz besonders geeignet, weil ihre Samen bei etwa 20° C. eine außerordentliche Keimungsenergie entwickeln und vom Licht wenig beeinflußt werden. Sie keimen in den Kontrollschalen bereits, ehe bei ausreichender Desinfektion die Fruchtsubstanz in den Versuchsschalen sich durch Fäulnis wesentlich verändert hat.

Versuchsanstellung.

Die Aussaat erfolgte in Petrischalen auf einschichtigem Filtrierpapier, das stets bis zur Sättigung feucht gehalten wurde. Die Schalen wurden bei den ersten Versuchen im Gewächshaus des Instituts am Lichte, später meist im dunklen Wärmeschrank bei 22° const. aufgestellt. Das Gewächshaus zeigte eine Temperatur von etwa 20°, die nach oben und unten täglich um einige Grade schwankte. — Als Desinficiens für die Fruchtsubstanz erwies sich Toluol als sehr brauchbar. Ich überzeugte mich durch Versuche (s. u.), daß Toluol auch in starker Konzentration die Keimung der Samen nicht beeinflußt. Im folgenden sind einige Versuche, die mir die gelungensten zu sein scheinen, zusammengestellt.

---

1. Zunächst war zu untersuchen, ob die Hemmung vielleicht nur auf Sauerstoffmangel beruhe. Ich bin in keinem der zahlreichen Versuche einer Erscheinung begegnet, die sich dahin deuten ließe. Ob ich die Früchte in Scheiben zerlegte oder gewaschene Samen nach Entfernung der ihnen anhaftenden Schleimhülle in rohem Fruchtsaft aussäte oder sie gewaschen auf die Innenseite der abgezogenen Fruchthaut auslegte, immer bestand die Hemmung fort trotz reichlichen Luftzutrittes. Ich habe mich davon auch bei Anwendung größerer Gefäße überzeugt, in denen den Samen mehr Sauerstoff als in den Petrischalen zu Gebote stand.

2. Wie ich weiter fand, ist die Hemmungserscheinung offenbar auch nicht auf osmotische Verhältnisse zurückzuführen. Man könnte meinen, daß die Zellen des Fruchtfleisches gegenüber denen des Samens hypertonisch seien und für die Samen daher in der Frucht die erste Vorbedingung der Keimung, nämlich die Quellungsmöglichkeit, nicht gegeben sei. Ich entnahm Samen aus einer Frucht und wog sie nach Auswaschung und folgender kurzer Abtrocknung. Das Gewicht von 44 Samen betrug 19 *cg*. Sie wurden nun auf Filtrierpapier in destilliertem Wasser ausgelegt und nach drei Tagen, d. h. kurz vor Beginn der Auskeimung, wieder gewogen. Ihr Gewicht betrug jetzt 20 *cg*, hatte sich also nur unwesentlich erhöht. Wenn ich hieraus schließe, daß die Samen in der Frucht nicht durch Wassermangel, sondern durch andere Ursachen an der Keimung verhindert werden, so kann ich dies auch durch weitere Erfahrungen bestätigen. Ich beobachtete nämlich mehrfach Samen von außergewöhnlicher Größe (bis zu 4 *mm* Durchmesser), die nicht keimten, solange sie der Fruchtsubstanz auflagen. Übertrug ich aber derartige Samen in eine andere Schale, wo das Filtrierpapier mit Aqua destillata getränkt war, keimten sie in kurzer Zeit, ohne ihren Durchmesser noch weiter zu vergrößern. Vergleichende Bestimmungen des osmotischen Druckes des Fruchtsaftes einerseits und eines Samenextraktes andrerseits dürften diese Anschauung bestätigen.

3. Nun könnte man noch meinen, daß die Übertragung der Samen in reines Wasser nach dem Aufenthalt im Fruchtsaft auf die Zellen des Embryos als Reiz wirke und sie zu Teilungen veranlasse. Dies erscheint mir widerlegt, da ich zeigen konnte, daß bei Aussaat der Samen in Fruchtsaft verschiedener Konzentration die Keimungsenergie entsprechend dem Verdünnungsgrad wächst, in reinem Wasser aber wieder geringer wird. Es ergibt sich das deutlich aus dem folgenden Versuch, der gleichzeitig beweist, daß das Toluol auf die Keimung keinen Einfluß ausübt.

Versuch 1 (blieb gänzlich schimmelfrei).

10 Petrischalen (*A* 1—5 und *B* 1—5) mit einer Schicht Filtrierpapier. In *A* abnehmende Konzentration des Fruchtsaftes von $^1/_2$ bis $^1/_{32}$ der natürlichen Konzentration. Entsprechend sank die

Konzentration des als Desinficiens verwendeten Toluols von Schale zu Schale gleichmäßig, von 0·2 % bis auf 0·0125 %. Die Kontrollschalen der Reihe *B* wurden mit reinem Toluolwasser beschickt, dessen Konzentration in den Schalen 1 bis 5 0·2 %, 0·1 %, 0·05 %, 0·025 % und 0·0 % betrug. Aufstellung im Gewächshaus des Instituts am Lichte. Beginn: 10. November 1921. Je 30 Samen. Die Reihe *d* bezeichnet die Anzahl der seit Beginn des Versuches verflossenen Tage.

Keimungen (in Prozent).

d	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5
6	0	0	0	0	30	47	13	37	37	0 !
7	0	0	3	24	71	60	47	53	60	0 !
8	0	7	13	52	80	80	83	80	80	10 !
9	0	13	24	82	100	93	87	87	96	50 !
11	0	33	50	90	—					
12	0	43	70	90	—	Toluolkontrolle aufgehoben !				
15	0	50	87	93	—					
20	0	80	90	100	—					
25	0	80	93	—	—					
27	7	80	93	—	—					
33	45	80	96	—	—					
37	70	90	96	—	—					

Das Ergebnis dieser Versuche spricht sehr deutlich gegen die Anschauung, daß die Entnahme aus der Frucht oder die Übertragung in Wasser auf die Samen als Reiz wirke. Vielmehr sehen wir uns zu der Annahme genötigt, daß die Früchte unserer Versuchspflanze eine Substanz enthalten, die keimungshemmend wirkt und deren Wirksamkeit mit sinkender Konzentration des Saftes sich abschwächt. Ich habe ähnlich ansteigende Keimungszahlen bei sinkenden Saftkonzentrationen in entsprechenden Versuchen immer wieder erhalten. Da ich nicht steril experimentiert habe, fragte ich mich stets von neuem, ob nicht die größere Keimungshemmung in dem konzentrierteren Saft vielleicht von der reichlicheren Bildung keimungshemmender Zersetzungsprodukte herrühren möchte, die die trotz des Toluols sich zuweilen bildenden Kolonien von Bakterien und Schimmelpilzen hervorbringen könnten. Um dies zu entscheiden, verglich ich die Keimungsergebnisse in rohem und gekochtem Saft gleicher Konzentration. Der Schimmelbefall, den ich diesmal nicht zu verhindern

suchte, war in beiden Schalen nicht unbeträchtlich und in der Schale mit dem abgekochten Saft stärker als in der anderen mit dem rohen Saft. Trotzdem keimten die Samen in der ersteren bedeutend besser, wie aus folgender Tabelle hervorgeht:

Versuch 2 (je 40 Samen).

Keimungen (in Prozent).

d	Auf rohem Saft	Auf gekochtem Saft
7	0	2·5
8	0	5
9	4	17
10	13	53
12	29	83
13	42	83
14	51	83
19	89 !	86
26	95 !	94

Wie man sieht, hatten die Samen auf gekochtem Saft nach 12 Tagen schon zu 83 % gekeimt, trotz der starken Zersetzungsvorgänge, während in der Schale mit rohem Saft erst jetzt, als der Schimmel wegen der starken Konzentration der eigenen Stoffwechselprodukte wieder zurückging, die Keimung erst recht einsetzte. Mir schien dieser Versuch so deutlich für das Vorhandensein einer nicht hitzebeständigen, keimungshemmenden Substanz im Fruchtsaft zu sprechen, daß ich auf die Durchführung eines sterilen Keimungsversuches glaubte verzichten zu können.

Nun konnte ich darangehen, die Natur des erschlossenen Körpers näher zu untersuchen. Hiermit bin ich jedoch noch nicht weit gelangt. Nur soviel kann ich sagen, daß es sich um einen kolloidalen Körper zu handeln scheint. Nach Ausschüttelung eines Saftfiltrates mit Alkohol und Äther erhielt ich einen weißlichen Niederschlag, von dem ich eine Suspension in destilliertem Wasser herstellte. Obgleich ich nur eine winzige Menge, schätzungsweise einige Zentigramm, von dem Niederschlag zur fortschreitenden Verdünnung verwendete, ergab sich auch hier wieder die bekannte ansteigende Reihe der Keimungszahlen:

Versuch 3 (Wärmeschrank 22° const.): 14. Dezember 1921.

Keimungen (in Prozent).

Tage d	Konzentration			H_2O
	c	$\frac{c}{2}$	$\frac{c}{4}$	
2	0	8	17	19
3	18	30	36	48

Offenbar war also die Hemmungssubstanz von dem Alkohol niedergeschlagen worden. Am vierten Tage nach Versuchsbeginn erhielt ich die Zahlen 61, 52, 61, 77.

Jetzt war also die Keimung bei der stärkeren Konzentration c besser als bei $\frac{1}{2}c$ und ebenso stark wie bei $\frac{1}{4}c$. Ich habe eine solche Umwandlung der hemmenden Wirkung in eine stimulierende, die an das Verhalten der Organismen gegenüber manchen Giften erinnert, mehrfach beobachten können (vgl. auch die letzten Zahlen des vorigen Versuches). Man mag diese Erscheinung auf eine teilweise Zersetzung der Hemmungssubstanz zurückführen können.

Zum Schluß erwähne ich, daß ich entsprechende Versuche auch mit *Cucumis sativa* und *Lagenaria vulgaris* durchgeführt habe. Es scheint auch hier eine Hemmungssubstanz vorhanden zu sein. Das Gleiche gilt von den Brutbechern der *Marchantia polymorpha*. Dagegen scheinen bei trockenen Früchten derartige Substanzen nicht überall vorzukommen. Samen von *Phaseolus multiflorus* und *Cheiranthus Cheiri* keimen auch willig in den Früchten, wenn diese feucht gehalten werden. Die Versuche darüber sind noch im Gange.

Literatur.

(1) Neger. Keimungshemmende und keimungsfördernde Stoffwechselprodukte. Naturw. Wochenschr. Neue Folge, XVII, p. 141—142.

(2) Zlataroff, As. Über das Altern der Pflanzen. Zeitschr. f. allg. Physiol., XXII. Bd., 2. Heft, 1916.

(3) Gassner, G., Beiträge zur Frage der Lichtkeimung. Zeitschr. f. Botanik, 1915, p. 609 ff.

(4) Magnus, W., Hemmungsstoffe und falsche Keimung. Ber. d. d. bot. Ges., 1920, p. (19)—(26).

(5) Haack, Die Prüfung des Kiefernsamens. Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen, 1912, p. 1—64.

(6) Wiesner, J., Pflanzenphys. Mitteilungen aus Buitenzorg, IV.

(7) Schumann, K., Lehrbuch der syst. Botanik. Stuttgart 1894, p. 87.

